

3

⑨ 日本国特許庁 (JP) ⑩ 特許出願公開
 ⑪ 公開特許公報 (A) 昭61-191700

⑤Int.Cl.
 C 07 K 17/08
 A 61 K 39/00
 47/00
 C 08 G 59/50
 73/02
 C 08 L 63/00
 C 12 N 11/08
 G 01 N 33/545

識別記号 場内整理番号
 Z-7906-2G 6464-4H
 8214-4C
 6742-4C
 6946-4J
 2102-4J
 6946-4J
 7823-4B

⑩公開 昭和61年(1986)8月26日

Z-7906-2G 審査請求 未請求 発明の数 2 (全9頁)

④発明の名称 エポキシーポリアルキレンイミン共重合体による生体物質の固定

②特願 昭60-293402

②出願 昭60(1985)12月27日

優先権主張 ②1984年12月28日③米国(US)④687209

②発明者 ウエイン・エリオット・スワン アメリカ合衆国、21045 メリーランド州、コロンビア、
 ストーム ドリフト 5392

②出願人 ジエネットクス・コーポレイション アメリカ合衆国、20877 メリーランド州、ガイザースバ
 ーグ、インダストリアル ドライブ 16020

②代理人 弁理士 田澤 博昭 外2名

明細書

1. 発明の名称

エポキシーポリアルキレンイミン共重合体によ
 る生体物質の固定

2. 特許請求の範囲

(1) 生体物質を①1分子当たり2個以上のエポキシド基をもつエポキシ樹脂と②ポリアルキレンイミンとの反応生成物である共重合体に接触させることから成る不溶性の生体物質複合物を作成することにより生体物質を固定する方法。

(2) 前記ポリアルキレンイミンがポリエチレンイミンである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(3) 前記ポリエチレンイミンが分子量約300から約100,000の間のものである特許請求の範囲第2項記載の方法。

(4) 前記分子量が約60,000である特許請求の範囲第3項記載の方法。

(5) 前記エポキシ樹脂が数平均分子量約150から2,000の間のものである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(6) 前記エポキシ樹脂が液体または固体である特許請求の範囲第5項記載の方法。

(7) 前記エポキシ樹脂が液体である特許請求の範囲第6項記載の方法。

(8) 前記エポキシ樹脂がエピクロロヒドリンによるビスフェノール-Aの縮合反応生成物である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(9) 前記エポキシ樹脂がエステル型ジエポキシドである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(10) 前記エステル型ジエポキシドが、ジグリシルフタル酸、ジグリシンジルアジピン酸およびジグリシジルグルタル酸から成る群より選択される特許請求の範囲第9項記載の方法。

(11) 前記エポキシ樹脂が環状脂肪族ジエポキシドである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(12) 前記の環状脂肪族ジエポキシドがビニルシクロヘキサンジエポキシドである特許請求の範囲第11項記載の方法。

(13) 前記エポキシ樹脂が脂肪族エーテルジエポキシドである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(14) 前記脂肪族エーテルジエポキシドがエチレングリコールジグリシジルエーテル、1,2-プロピレングリコールジグリシジルエーテル、および1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルより成る群から選択される特許請求の範囲第13項記載の方法。

(15) 前記脂肪族エーテルジエポキシドが1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルである特許請求の範囲第14項記載の方法。

(16) 前記共重合体が有効量の交叉結合剤で処理されている特許請求の範囲第1項記載の方法。

(17) 交叉結合剤が多官能性アミン、グルタル酸ジアルデヒド、ジイソシアネート、ポリイソシアネート、2,4,6-トリクロロ-5-トリアジン、ビスオキシレン、ビスイミデート、ジビニルスルフォンおよび1,5-ジフロロ-2,4-ジニトロベンゼンより成る群から選択される特許請求の範囲第16項記載の方法。

(18) 前記多官能性アミンがテトラエチレンベンタミンである特許請求の範囲第17項記載の方法。

の方法。

(27) (a) 1分子当たり2個以上のエポキシド基をもつエポキシ樹脂と(b)ポリアルキレンイミンとの反応生成物である共重合体内に固定された生物学的活性物質より成る不溶性の生体物質複合物。

(28) ポリアルキレンイミンに対するエポキシ樹脂のモル比が99:1ないし1:99の範囲にある特許請求の範囲第27項記載の方法。

(29) モル比が75:25ないし25:75である特許請求の範囲第27項記載の方法。

(30) 前記エポキシ樹脂が数平均分子量約150乃至2,000を有する特許請求の範囲第27項記載の方法。

(31) 前記エポキシ樹脂が液体または固体である特許請求の範囲第27項記載の方法。

(32) 前記エポキシ樹脂が液体である特許請求の範囲第31項記載の方法。

(33) 前記エポキシ樹脂がエピクロロヒドリンによるビスフェノール-Aの縮合反応生成物である特許請求の範囲第27項記載の方法。

(19) 前記交叉結合剤の量が共重合体中に存在するエポキシ樹脂1モル当たり約0.001ないし約50モルの範囲にある特許請求の範囲第18項記載の方法。

(20) 前記エポキシ樹脂とポリアルキレンイミンのモル比が99:1ないし1:99にある特許請求の範囲第1項記載の方法。

(21) モル比が75:25ないし25:75である特許請求の範囲第20項記載の方法。

(22) 前記生物学的活性物質がバーミキュライトと接触させられる特許請求の範囲第1項記載の方法。

(23) バーミキュライトが前記共重合体により被覆される特許請求の範囲第22項記載の方法。

(24) 前記生体物質が水溶液である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(25) 前記の固定された物質が遊離酵素である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(26) 前記の固定された物質が無傷のまたは破碎した微生物細胞である特許請求の範囲第1項記載

(34) 前記エポキシ樹脂がエステル型ジエポキシドである特許請求の範囲第27項記載の方法。

(35) 前記エステル型ジエポキシドがジグリシジルフルタル酸、ジグリシジルアジピン酸およびジグリシジルグルタル酸より成る群から選択される特許請求の範囲第34項記載の方法。

(36) 前記エポキシ樹脂が環状脂肪族ジエポキシドである特許請求の範囲第27項記載の方法。

(37) 前記環状脂肪族ジエポキシドがビニルシクロヘキサンジエポキシドである特許請求の範囲第36項記載の方法。

(38) 前記エポキシ樹脂が脂肪族エーテルジエポキシドである特許請求の範囲第27項記載の方法。

(39) 前記脂肪族エーテルジエポキシドがエチレングリコールジグリシジルエーテル、1,2-プロピレングリコールジグリシジルエーテルおよび1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルより成る群から選択される特許請求の範囲第38項記載の方法。

(40) 前記脂肪族エーテルジエポキシドが1,4-

ブタンジオールジグリジルエーテルである特許請求の範囲第39項記載の方法。

(41) 前記ポリアルキレンイミンが分子量30,000ないし100,000である特許請求の範囲第27項記載の方法。

(42) 前記ポリアルキレンイミンがポリエチレンイミンである特許請求の範囲第41項記載の方法。

(43) ポリエチレンイミンが分枝状である特許請求の範囲第42項記載の方法。

(44) 前記共重合体が有効量の交叉結合剤で処理されている特許請求の範囲第27項記載の方法。

(45) 前記交叉結合剤が多機能性アミン、グルタル酸ジアルデヒド、ジイソシアネート、ポリイソシアネート、ジビニルスルファンおよび1,5-ジフロロ-2,4-ジニトロベンゼンより成る群から選択される特許請求の範囲第44項記載の方法。

(46) 前記交叉結合剤がグルタルジアルデヒドである特許請求の範囲第45項記載の方法。

(47) 前記多機能性アミンがテトラエチレンペタミンである特許請求の範囲第45項記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は生体物質の固定方法に関する。

酵素や酵素産生微生物や細胞などのような生体物質は、合成反応や分析法における触媒としてしばしば使われる。このような触媒は、一般的な温和な反応条件において高い特異性と効率で機能するという理由で望ましいものである。

酵素やその他の生体触媒は一般に水溶性なので、バッヂ型反応系での使用に適している。これらの酵素やその他の生体触媒の再利用は、使用済の反応溶媒からこれらを活性な、すなわち利用可能な形で回収することが困難なため、限界がある。さらにこれらの物質は、得られた製品中に汚染物質として残りやすい。これらの問題を回避するために、不溶性の固体支持体上で触媒活性を示すように生体物質を固定する方法が開発されてきた。固定は反復または連続使用の厳しさに耐え得る安定した生体物質を作り出すことを目的としている。

生体物質のための種々の固定システムが報告されている。酵素は、木炭、ガラス、セルロース、

(48) 前記交叉結合剤の量が前記共重合体中に存在するエポキシ1モル当たり約0.001ないし約50モルの範囲にある特許請求の範囲第44項記載の方法。

(49) 前記生物学的活性物質がバーミキュライトと接触させられる特許請求の範囲第27項記載の方法。

(50) 前記バーミキュライトが前記共重合体で被覆される特許請求の範囲第49項記載の方法。

(51) 前記複合物が既製の物質または固体支持体上に被覆される特許請求の範囲第27項記載の方法。

(52) 前記既製物質または固体支持体がグラスファイバー、木炭、セルロース、リン酸カルシウムゲル、モンモリロナイトおよびイオン交換樹脂より成る群から選択される特許請求の範囲第51項記載の方法。

(53) 前記複合物がビーズ状、試験管状、円筒状、フィルム状および粒子状のいずれかである特許請求の範囲第27項記載の方法。

リン酸カルシウムゲル、モンモリロナイト、および有機イオン交換樹脂などの不溶性物質上に吸着させることにより固定されている。さらに澱粉およびアクリルアミドゲル内に酵素を閉じ込め、酵素分子同志間の共有結合のみならず、酵素と不溶性有機ポリマーの間の共有結合により固定することも行なわれている。

前記の方法では、対応する遊離の生体物質に比べて酵素活性の低下した産物を生ずることが多い。これらの生体物質は温度的・化学的変性および不活性化に対して敏感なことがわかっている。生体活性の損失は、固定がポリマー濃縮反応を含む際に特に問題となる戦しい条件下で行なわれた場合にしばしばもたらされる。さらに、前記の方法により生ずる産物は、その親水性、強度、耐久性、多孔性の点で不利なことが多い。

さらにある種の生体物質をエポキシ結合を含む化合物を用いて固定する試みも行なわれている。エポキシの機能は生体物質中のアミンや水酸基に対して非常に高い反応性を示すとはいえ、エポキ

シ部分に基づく固定系は今までのところ生体触媒として利用するにはあまりにも疎水的ため、これらの試みは一般に良好な結果をもたらしていない。

最近、多くの例で生体物質は濃縮したポリアルキレンイミンポリマー中に閉じ込めることにより、高い酵素活性を保持した状態で固定化できることが明らかにされた。米国特許第4,434,228号記載の方法により、ポリアルキレンイミンポリマーはポリカルボン酸により濃縮剤の存在下で濃縮される。固定する生体物質は濃縮反応中にポリアルキレンイミンポリマーと混合される。

この生体物質固定方法は多くの条件下で有利なことがわかったが、さらに改良が求められている。本発明の目的は、生体物質を高い触媒活性を保持した状態で固定する方法の開発に関する。本発明はさらに最終生成物の親水的-疎水的性質を容易に変えられるような方法の開発も目的としている。

本発明は生体物質をエポキシ樹脂とポリアルキレンイミンとの反応生成物である共重合体に接触

分子当たり2個以上のエポキシ基をもつエポキシである。エポキシは数平均分子量が約150から2,000の間にあることが望ましい。このエポキシ樹脂は液体にも固体にもでき、単一のエポキシ樹脂であっても適当なエポキシ樹脂の混合物であってもよい。

適当なジエポキシドの例としては、これらに限定されるわけではないが、ビスフェノール-Aのエピクロロヒドリンによる縮合反応生成物、たとえばエボン826、828、1001、1002（シェル化学会社販売）として市販され利用できるもの；アラルダイト6010および6020（チバ・ガイギー社販売）；ジグリシジルフタル酸、ジグリシジルアジピン酸、およびジグリシジルグルタル酸のようなエステル型ジエポキシド；ビニルシクロヘキサンジエポキシドやアラルダイトCY-179（チバ・ガイギー社販売）のような環状脂肪族ジエポキシド；エチレングリコールジグリシジルエーテル、1,2-ブロビレングリコールジグリシジルエーテルおよび1,4-ブタンジオ

させて不溶性の生体物質合成物を生成させることにより固定する方法に関する。共重合体は1つ以上の実効的な量の交叉結合剤を含むこともある。ポリアルキレンイミンとエポキシとのモル比を変えることにより種々の程度の疎水的/親水的性質をもつ共重合体を作ることができる。共重合体合成物は高い強度と耐久性を示し、広範囲の生体物質の固定に適している。

本発明の方法により細胞や酵素を含めた種々の生体物質を、エポキシ樹脂とポリアルキレンイミンおよび場合により適当な交叉結合剤との共重合体に接触させることにより固定することができる。固定できる生体物質の例としては遊離の酵素、微生物細胞そのものまたはその破碎物、抗原、抗体、抗生物質、炭水化物、補酵素、および植物細胞・動物細胞などがある。酵素は共重合体に水溶液としても粉末剤としても添加できるが、後者の方が望ましい。細胞は湿润ペーストの形でも粒子としても添加できる。

本発明の方法において有効なエポキシ樹脂は1

アルジグリシジルエーテル（アラルダイトRD-2チバ・ガイギー社販売）などの脂肪族エーテル型ジエポキシドなどがある。

本発明の新規な共重合体は、前記のエポキシ化合物をポリアルキレンイミンに接触させることにより作られる。ポリアルキレンイミンはアルキレンイミンモノマーの酸触媒付加重合により合成できる。このポリマーは一般にその反応条件により分子量が30,000ないし100,000の間で変化し、分枝鎖構造をもつものが好ましい。

ポリエチレンイミン（PEI）は最近安価で容易に入手でき、本発明で利用される反応において良好な機能を示すために望ましいポリアルキレンイミンである。ポリエチレンイミンは、無機酸のような触媒の存在下でエチレンイミンを開環重合させることにより作られる。このポリマーは高度に分枝し、1級、2級、および3級のアミノ基を含む。PEIは水溶性であり、本発明の方法によりエポキシ樹脂と混合すると水溶性生成物を生ずる。

ポリアルキレンイミンのエポキシ樹脂に対するモル比は広範囲に変えることができる。ポリアルキルイミンに対するエポキシ樹脂のモル比は通常約1:99から99:1の範囲である。より望ましいモル比は約75:25ないし25:75の間である。本発明の新規な共重合体の生成においては、ポリアルキルイミンに対するエポキシ樹脂の比が高い程、生成する共重合体の疎水性も高くなる。逆に、エポキシ樹脂に対するポリアルキルイミンの比が高い程、共重合体はより親水性になる。

本発明の共重合体における交叉結合量を変えることにより、共重合体の親水性／疎水性を直接コントロールすることができる。交叉結合量はエポキシの性質やポリアルキルイミンに対するエポキシの比を変えることによってのみならず、1つ以上の交叉結合剤の添加によっても調整できる。たとえば、多官能性アミンの添加により共重合体のエポキシ重合単位をさらに交叉結合させることができる。交叉結合剤の量は、選択された個々のエポキシ樹脂のエポキシ官能基の数によって変わる。

ンとエポキシ基交叉結合剤を混合してからエポキシ樹脂と生体物質を添加してもよい。その他の実施例はこの分野の技術者には容易にわかるものである。

共重合体内での生体物質の固定はポリアルキレンイミンまたはエポキシ樹脂と生体物質中の反応基との間の共有結合によってのみならず、物理的閉じ込めによっても可能である。たとえば生体物質のアミン基はポリアルキレンイミンのアミン基と置換し、最終的にポリマーと共有結合するようになる。

共重合体／生体物質複合物は、室温で成分を混合することにより作成できる。一方、温度を高くすることにより重合速度を加速することができる。付加できる熱量は固定される生体物質の性質と感受性によって決まる。選択した温度は生体物質を不活性化しないものとすべきである。

共重合体は硬化剤の存在下で作成することができる。ある種の多機能性アミンのような硬化剤は室温での共重合体生成反応速度を加速する。硬化

一般にエポキシ交叉結合剤の量は、使用するエポキシ1モル当り約0.001ないし50モルの範囲である。より望ましくは約0.01から10モルの間である。適当な交叉結合剤としてはテトラエチレンペントミン(TBPA)およびエチレンジアミンがある。

本発明の一実施例においてはコポリマーは引続き、安定性と強度を向上させる交叉結合剤で処理することができる。適合な交叉結合剤としてはグルタル酸ジアルデヒド、ジイソシアネート、ポリイソシアネート、2,4,6-トリクロロ-S-トリアジン、ビスオキシラン、ジビニルスルファン、1,5-ジフロロ-2,4-ジニトロベンゼンなどがある。グルタル酸アルデヒドは望ましいアミン交叉結合剤である。

複合物の製造においては、いかなる順序で成分を加えてもよい。たとえば、生体物質、ポリアルキレンイミン、エポキシ樹脂および付加的交叉結合剤を一度に混合しても最終的な共重合体生体物質複合物が生成する。一方、ポリアルキレンイミ

剤として有用な化合物のひとつにチバ・ガイギー社製のHY956がある。この化合物は変性されたトリエチレンテトラミンである。

共重合体に添加する生体物質の量は生体物質複合物の特定の最終的用途に応じて変えることができる。一般にその量は、使用するポリアルキレンイミン-エポキシ共重合体1グラム当り約0.001ないし10グラム(乾燥重量)の範囲であるが、最終的な複合物の特定の目的に応じてこれより多いことも少ないこともある。

本発明の実施例の一つにおいては、発酵培養液から採集した無傷の湿润細胞のような生体物質をバーミキュライト粒子に接触させることができる。生体物質はバーミキュライト内に吸着され、統いてバーミキュライトは本発明のエポキシ-ポリアルキレンイミン共重合体と混合され、被包されて最終複合物を生ずる。バーミキュライトは生体物質の運搬体としての役割を果たす。バーミキュライトは多量の生体物質を吸着できるように高密度に充填される。バーミキュライトの大きさは微細

粉末から約1mmまで変えられるがより望ましくは約0.5ないし1mmの間である。

本発明の共重合体生体物質複合物は、ビーズ、試験管、シリンドー、フィルムおよび粒子などのような多様な製品として作ることができる。共重合体はさらにグラスファイバー、木炭、セルロース、リン酸カルシウムゲル、モンモリロナイト、イオン交換樹脂および糸のような多様な成形物や固体支持体上で被覆剤として使用することができる。複合物は簡単な濾過により反応混合物から分離でき、または反応基質が密封カラム反応容器を流れてゆくような連続反応プロセス中で使用できるため、バッチ反応において利用することができる。

上に述べた本発明の方法および生成物の使用により、多様な生体物質を固定することが可能となる。以下の実施例は本発明の製造および使用方法を説明するものであり、本発明の種々の実施例を示してあるが、限定することを意図するものではない。

た。生成ポリマーは硬く疎水性であった。

実施例V

液状エポキシ樹脂アラルダイト6010 2.5グラムとロードトルラ・ルブロ(*Rhodotorula rubra*)株無傷酵母菌の產生するフェニルアラニンアンモニアリーゼ(PAL) 2.5グラムとを反応容器に添加し混合した。続いてポリエチレンイミン(PEI) 0.5グラムを添加し混合した。約2時間後に共重合体は硬化した。共重合体を乳鉢で乳棒により粉碎した後、水とL-ケイ皮酸267.6mMとアンモニア8Mから成るpH1.0.5の基質溶液約200mlで洗浄した。共重合体は細胞のため赤く着色していたが、洗浄液中に細胞は検出されなかった。

実施例VI

細胞ペースト6グラム、アラルダイト6010 1.0グラム、PEI 2.5グラムおよびテトラエチレンベンタミン(TEPA) 0.5グラムを使用した点を除き、実施例Vの全操作に従った。生成物は粉碎洗浄する前に1晩静置した。生成物はやや

実施例I

アラルダイト6010(チバ・ガイギー社より入手可能な液体状エポキシ樹脂) 1.0グラムとポリエチレンイミン(PEI) 1.0グラムを溶媒なしで室温で混合した。生成物は柔軟で親水性であった。硬化時間は約2時間であった。

実施例II

実施例Iの過程を硬化速度を加速するために、TEPA 3グラムを添加する点を除いてくり返した。生成ポリマーは数分以内に生じ、その後30分間硬化させた。

実施例III

アラルダイト6010 5グラム、PEI 1.0グラムおよびTEPA 2グラムを混合した。生成ポリマーは約15分間の硬化時間で生じた。

実施例IV

PEI 5グラム、アラルダイト507(チバ・ガイギー社より入手可能なエポキシ樹脂) 1.0グラムおよびHY956(チバ・ガイギー社より入手可能なポリアミン硬化剤) 2.5グラムを混合し

硬い可撓性の共重合体で細胞塊由来の赤い着色をおびていた。生成物に実施例V記載の基質溶液を加えることによりケイ皮酸アンモニウムをL-フェニルアラニンに変えた。フェニルアラニン酵素を含む固定化酵母細胞はケイ皮酸とアンモニアからL-フェニルアラニンを作成することに成功した。

実施例VII

アラルダイト6010 5グラムと液状グルコアミラーゼ酵素製品(エンザイム・デベロップメント社(Enzyme Development Corporation)より入手可能) 3グラムとを反応容器に加えて混合した。次にPEI 1.0グラムを加えて混合した。生成物は1.0-DEマルトデキストラン溶液(pH4.5固形分30%)を基質として酵素活性について調べられた。粒子1グラムを基質(60℃) 25ccに加えた。澱粉の75%がグルコースへ変化した。続いて粒子を基質から分離し、洗浄したのち新鮮な基質溶液25ccに添加した。第2回目の行程では澱粉の79%がグルコースに変化しているのが

特開昭61-191700(ア)

わかった。

実施例Ⅷ

実施例Ⅵ記載の生体物質含有共重合体の全製造過程に従ってできるが、共重合体が硬化する前に少量の液体溶液を内径約2mmのTygon^④チューブを通して吸引する。チューブの内面を被覆するのに十分な溶液を使用する。被覆チューブは45℃の加熱灯のもとに30分間静置することにより被覆溶液を硬化させる。

被覆チューブはまた実施例Ⅵと同じく10-D-Eマルトデキストランをグルコースへ転換する連続流出反応容器として使用することができる。

同様の過程は多様な生体物質、エポキシド、およびポリアルキレンイミドとともに使用することもできる。

実施例Ⅸ

実施例Ⅵ記載の生体物質含有共重合体の全製造過程をくり返すことができるが、生成物が完全に硬化する前に液状プレポリマー溶液を使用してガラス試験管の下半分を被覆する。統いて被覆チュ

ーブをP.E.I.-エポキシプレポリマー溶液でさらに被覆して硬化させる。この最終段階の操作は所望の厚さのポリマー被覆を作るのに十分な回数だけくり返し、強制で自己支持的なものにする。最終的硬化操作後、被覆チューブを35℃の水溶液に没す。ポリマーはガラス試験管内面に拡がってゆき、内面がグルコアミラーゼで被覆された自己支持的重合試験管が生ずる。この試験管は実施例Ⅵと同様に10-D-Eマルトデキストランをグルコースへ転換する反応容器として利用できる。

実施例Ⅹ

P.E.I.1グラムを1.4ブタンジオールジグリシルエーテル0.5gと混合した。生成物は16時間硬化させた。生じた硬化重合物は親水性で生物学的支持体として利用するのに適している。

本発明は特定の実施例に関して説明されているが、当業者には前記の特許請求の範囲で規定された発明の範囲から事実上離脱することはなしに種々の変更ができることが明らかであろう。

手 続 補 正 書(自 発)
61.3.24
昭和 年 月 日

特許庁長官殿

- 事件の表示 特願昭60-293402号
- 発明の名称 エポキシ-ポリアルキレンイミン共重合体による生体物質の固定
- 補正をする者 事件との関係 特許出願人
住所
名 称 ジェネックス・コーポレイション
- 代 理 人 郵便番号 105
住 所 東京都港区西新橋1丁目4番10号
第3森ビル3階
氏 名 (6647)弁理士 田澤博昭
電話 03(591)5095番
- 補正の対象 明細書の特許請求の範囲の欄
- 補正の内容 別紙のとおり

特許庁
61.3.24

補正後の特許請求の範囲

- 生体物質を1分子当り2個以上のエポキシド基をもつエポキシ樹脂と(i)ポリアルキレンイミンとの反応生成物である共重合体に接触させることから成る不溶性の生体物質複合物を作成することにより生体物質を固定する方法。
- 前記ポリアルキレンイミンがポリエチレンイミンである特許請求の範囲第1項記載の方法。
- 前記ポリエチレンイミンが分子量約30,000から約100,000の間のものである特許請求の範囲第2項記載の方法。
- 前記分子量が約60,000である特許請求の範囲第3項記載の方法。
- 前記エポキシ樹脂が数平均分子量約150から2,000の間のものである特許請求の範囲第1項記載の方法。
- 前記エポキシ樹脂が液体または固体である特許請求の範囲第5項記載の方法。
- 前記エポキシ樹脂が液体である特許請求の範囲第6項記載の方法。

(8) 前記エポキシ樹脂がエピクロロヒドリンによるビスフェノール-Aの縮合反応生成物である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(9) 前記エポキシ樹脂がエステル型ジエポキシドである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(10) 前記エステル型ジエポキシドが、ジグリシルフタル酸、ジグリシジルアジピン酸およびジグリシジルグルタル酸から成る群より選択される特許請求の範囲第9項記載の方法。

(11) 前記エポキシ樹脂が環状脂肪族ジエポキシドである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(12) 前記の環状脂肪族ジエポキシドがビニルシクロヘキサンジエポキシドである特許請求の範囲第11項記載の方法。

(13) 前記エポキシ樹脂が脂肪族エーテルジエポキシドである特許請求の範囲第1項記載の方法。

(14) 前記脂肪族エーテルジエポキシドがエチレングリコールジグリシジルエーテル、1,2-ブロビレングリコールジグリシジルエーテル、および1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルより

(20) 前記エポキシ樹脂とポリアルキレンイミンのモル比が99:1ないし1:99にある特許請求の範囲第1項記載の方法。

(21) モル比が75:25ないし25:75である特許請求の範囲第20項記載の方法。

(22) 前記生物学的活性物質がバーミキュライトと接触させられる特許請求の範囲第1項記載の方法。

(23) バーミキュライトが前記共重合体により被覆される特許請求の範囲第22項記載の方法。

(24) 前記生体物質が水溶液である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(25) 前記の固定された物質が遊離酵素である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(26) 前記の固定された物質が無傷のまたは破碎した微生物細胞である特許請求の範囲第1項記載の方法。

(27) (a) 1分子当たり2個以上のエポキシド基をもつエポキシ樹脂と(b)ポリアルキレンイミンとの反応生成物である共重合体内に固定された生物学的

成る群から選択される特許請求の範囲第13項記載の方法。

(15) 前記脂肪族エーテルジエポキシドが1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルである特許請求の範囲第14項記載の方法。

(16) 前記共重合体が有効量の交叉結合剤で処理されている特許請求の範囲第1項記載の方法。

(17) 交叉結合剤が多官能性アミン、グルタル酸ジアルデヒド、ジイソシアネート、ポリイソシアネート、2,4,6-トリクロロ-5-トリアジン、ビスオキシレン、ビスイミデート、ジビニルスルフォンおよび1,5-ジフロロ-2,4-ジニトロベンゼンより成る群から選択される特許請求の範囲第16項記載の方法。

(18) 前記多官能性アミンがテトラエチレンペնタミンである特許請求の範囲第17項記載の方法。

(19) 前記交叉結合剤の量が共重合体中に存在するエポキシ樹脂1モル当り約0.001ないし約50モルの範囲にある特許請求の範囲第18項記載の方法。

活性物質より成る不溶性の生体物質複合物。

(28) ポリアルキレンイミンに対するエポキシ樹脂のモル比が99:1ないし1:99の範囲にある特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(29) モル比が75:25ないし25:75である特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(30) 前記エポキシ樹脂が数平均分子量約150乃至2,000を有する特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(31) 前記エポキシ樹脂が液体または固体である特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(32) 前記エポキシ樹脂が液体である特許請求の範囲第31項記載の複合物。

(33) 前記エポキシ樹脂がエピクロロヒドリンによるビスフェノール-Aの縮合反応生成物である特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(34) 前記エポキシ樹脂がエステル型ジエポキシドである特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(35) 前記エステル型ジエポキシドがジグリシルフタル酸、ジグリシジルアジピン酸およびジグ

リシジルグルタル酸より成る群から選択される特許請求の範囲第34項記載の複合物。

(36) 前記エポキシ樹脂が環状脂肪族エポキシドである特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(37) 前記環状脂肪族エポキシドがビニルシクロヘキサンジエポキシドである特許請求の範囲第36項記載の複合物。

(38) 前記エポキシ樹脂が脂肪族エーテルジエポキシドである特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(39) 前記脂肪族エーテルジエポキシドがエチレングリコールジグリシジルエーテル、1,2-ブロピレングリコールジグリシジルエーテルおよび1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルより成る群から選択される特許請求の範囲第38項記載の複合物。

(40) 前記脂肪族エーテルジエポキシドが1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテルである特許請求の範囲第39項記載の複合物。

(41) 前記ポリアルキレンイミンが分子量30,000

ないし100,000である特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(42) 前記ポリアルキレンイミンがポリエチレンイミンである特許請求の範囲第41項記載の複合物。

(43) ポリエチレンイミンが分枝状である特許請求の範囲第42項記載の複合物。

(44) 前記共重合体が有効量の交叉結合剤で処理されている特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(45) 前記交叉結合剤が多機能性アミン、グルタル酸ジアルデヒド、ジイソシアネート、ポリイソシアネート、ジビニルスルフォンおよび1,5-ジフロロ-2,4-ジニトロベンゼンより成る群から選択される特許請求の範囲第44項記載の複合物。

(46) 前記交叉結合剤がグルタルジアルデヒドである特許請求の範囲第45項記載の複合物。

(47) 前記多機能性アミンがテトラエチレンベンタミンである特許請求の範囲第45項記載の複合物。

(48) 前記交叉結合剤の量が前記共重合体中に存

在するエポキシ1モル当たり約0.001ないし約50モルの範囲にある特許請求の範囲第44項記載の複合物。

(49) 前記生物学的活性物質がバーミキュライトと接触させられる特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(50) 前記バーミキュライトが前記共重合体で被覆される特許請求の範囲第49項記載の複合物。

(51) 前記複合物が既製の物質または固体支持体上に被覆される特許請求の範囲第27項記載の複合物。

(52) 前記既製物質または固体支持体がグラスファイバー、木炭、セルロース、リン酸カルシウムゲル、モンモリナイトおよびイオン交換樹脂より成る群から選択される特許請求の範囲第51項記載の複合物。

(53) 前記複合物がビーズ状、試験管状、円筒状、フィルム状および粒子状のいずれかである特許請求の範囲第27項記載の複合物。